Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 4, Winter 2024, p. 1073-1086

The Effect of Foliar Application of Ascorbic Acid and Oxalic Acid on the Physiological Responses of Strawberry cv. Camarosa

N. Soukht Saraei[1], F. Varasteh[2*], M. Alizadeh[3]

1, 2 and 3- M.Sc Graduated, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: f.varasteh@gau.ac.ir)

Received: 14-02-2023 Revised: 18-04-2023 Accepted: 05-07-2023 Available Online: 09-07-2023	**How to cite this article:** Soukht saraei, N., Varasteh, F., & Alizadeh, M. (2024). The effect of foliar application of ascorbic acid and oxalic acid on the physiological responses of strawberry cv. Camarosa. *Journal of Horticultural Science*, *37*(4), 1073-1086. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.81120.1240

Introduction

In recent years, the use of organic acids has increased due to their role in the quantitative and qualitative yield and resistance to environmental stresses. Ascorbic acid (vitamin C) is one of the important antioxidants and plays a role as the primary substrate in cyclic pathways to remove toxicity and neutralize superoxide and single oxygen radicals. Ascorbate is also involved in the regulation of cell division and photosynthesis and has nutritional value for humans and is probably important for the tolerance of plants against photo-oxidative stress. Oxalic acid is a metabolic end product in plants that has many physiological functions, the main ones is the induction of resistance to disease and environmental stress by increasing the activity of enzymes involved in resistance and secondary metabolites such as phenol, flavonoid, etc. Considering the importance of the physiological traits of the plant in the production of quantitative and qualitative yield of strawberry and on the other hand, the lack of sufficient information about the effect of external application of ascorbic acid and oxalic acid on the physiological traits of the plant, the present research work aimed to investigate some physiological and qualitative traits of strawberry leaves and fruits affected by foliar spraying of ascorbic acid and oxalic acid.

Materials and Methods

The experiment was conducted based on randomized complete block design (RCBD) with three replications in Darkalate village of Ramiyan city of Golestan province to investigate some physiological responses of strawberry cv. Camarosa to the foliar application of organic acids. The experimental treatments consisted of three levels: non-spraying as control, spraying with 1 mM ascorbic acid and 1 mM oxalic acid, which was performed in three stages (from end flowering stage to the green fruit stage) at 6 days intervals. Finally, three plants were selected from each experimental unit and leaf samples were taken and transferred to the laboratory to measure physiological traits *i.e.* leaf area, fresh and dry weights, total chlorophylls, chlorophyll a and chlorophyll b, total carotenoids, total sugars, total phenols and flavonoids. Also, when at least 75 percent of the fruit surface turned red, the fruits were harvested from each plot separately and immediately transferred to the Plant Physiology Laboratory of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. The physicochemical traits of strawberry fruits including total soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), flavor index, vitamin C, total phenol, flavonoid, antioxidant activity, total anthocyanins were measured. Analysis of data were performed using SAS 9.2 statistical software and comparison of mean data were undertaken based on LSD statistical test.

https://doi.org/10.22067/jhs.2023.81120.1240

Results and discussion

The results showed that the foliar application of ascorbic acid and organic acid had a significant effect on the leaf area, fresh and dry weights, total chlorophylls, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, total sugars, phenols and flavonoids. The highest mean leaf area (314.08 cm^2), leaf fresh and dry weights (1.78 and 0.56 grams, respectively), chlorophyll a (0.43 mg/g), total carotenoids (0.29 mg/g), total sugars (1.43 µg/g), total phenols (0.70 mg/g) and flavonoids (0.19 mg/g) were observed in the application of oxalic acid. The control had the lowest mean in all studied traits (except carotenoids). The application of both ascorbic acid and oxalic acid resulted in an increase in photosynthetic pigments, elevating the total chlorophyll content by an average of 22% compared to the control group. Additionally, foliar spraying with ascorbic and oxalic acid led to higher levels of total soluble solids, increased antioxidant activity, and enhanced total flavonoid content in the fruit compared to the control group.Moreover, fruits harvested from plants treated with oxalic acid before harvest exhibited higher levels of total anthocyanin and phenol compared to fruits from plants treated with ascorbic acid before harvest and the control group. Fruits of plants treated with ascorbic acid compared to plants treated with oxalic acid had lower vitamin C and titratable acidity and higher flavor index. The physiological influence of oxalic acid was more superior than that of ascorbic acid and had higher positive effects in the studied traits were recorded. However, since ascorbate is one of the precursors of oxalic acid biosynthesis. Therefore, the changes caused by oxalic acid are indirectly influenced by ascorbic acid. Ascorbic acid acts as a cofactor in photosynthetic reactions and prevents the destruction of chlorophylls and carotenoids due to its antioxidant property, and by interfering in cell division and increasing the surface area of leaves; it increases photosynthesis and the production of carbohydrates. In general, according to the results, it was found that the application of ascorbic acid and oxalic acid improved the quality characteristics and the content of health related compounds of Camarosa strawberry fruit by increasing photosynthetic pigments and biomass.

Keywords: Biomass, Organic acids, Photosynthetic pigments, Total phenol

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ٤، زمستان ١٤٠٢، ص. ١٠٨٦-١٠٧٣

اثر محلول‌پاشی برگی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر پاسخ‌های فیزیولوژیک توت‌فرنگی رقم ’کاماروسا‘

نعیمه سوخت‌سرایی[۱]- فریال وارسته[۲]*- مهدی علی‌زاده[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۴

چکیده

در سال‌های اخیر کاربرد اسیدهای آلی به دلیل تأثیر آنها در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه و افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی افزایش یافته است. به‌همین منظور، برای بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک توت‌فرنگی رقم ’کاماروسا‘ به محلول‌پاشی برگی اسیدهای آلی، آزمایشی به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل: محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک (هر کدام با غلظت یک میلی‌مولار) در سه مرحله (از مرحله اتمام گلدهی تا مرحله میوه سبز) با فواصل شش روز یک‌بار و تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) بود. نتایج نشان داد که تیمار محلول‌پاشی اثر معنی‌داری بر سطح برگ، وزن تر، وزن خشک برگ، میزان کلروفیل‌های a، b و کل، کارتنوئید، قند کل، فلاونوئید و فنل کل داشت. بیشترین میانگین سطح برگ (۳۱۴/۰۸ سانتی‌متر مربع)، وزن تر و خشک برگ (به‌ترتیب ۱/۷۸ و ۰/۵۶ گرم)، کلروفیل a و کارتنوئید کل (به‌ترتیب ۰/۴۳ و ۰/۲۹ میلی‌گرم بر گرم)، قند کل (۱/۴۳ میکروگرم بر گرم)، فنل کل (۰/۷۰ میلی‌گرم بر گرم) و فلاونوئید کل (۰/۱۹ میلی‌گرم بر گرم) در کاربرد اسید اگزالیک مشاهده شد. تیمار شاهد دارای کمترین میانگین در تمام صفت‌های مورد مطالعه (به جز کارتنوئید) بود. مصرف اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و نسبت به تیمار شاهد به‌طور میانگین ۲۲ درصد میزان کلروفیل کل را افزایش داد. به‌علاوه، محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و اگزالیک باعث افزایش مواد جامد محلول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید میوه نسبت به شاهد شد. همچنین میوه-های برداشت شده از گیاهان تیمار شده با اسید اگزالیک، آنتوسیانین و فنل کل بیشتری نسبت به میوه‌های برداشت شده از گیاهان تیمار شده با اسید آسکوربیک و شاهد دارا بودند. میوه‌های گیاهان تیمار شده با اسید آسکوربیک نسبت به گیاهان تیمار شده با اسید اگزالیک، ویتامین ث و اسیدیته قابل تیتر کمتر و شاخص طعم بالاتری داشتند. به‌طور کلی با توجه به نتایج مشخص شد که محلول‌پاشی برگی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و زیست‌توده، باعث بهبود صفات کیفی و محتوای ترکیبات مرتبط با سلامتی در میوه توت‌فرنگی رقم ’کاماروسا‘ شد.

واژه‌های کلیدی: اسیدهای آلی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، زیست‌توده، فنل کل

مقدمه

توت‌فرنگی (*Fragaria× ananassa*) یکی از میوه‌هایی است که به‌دلیل عطر و طعم، شکل زیبا، جذابیت رنگ و ارزش غذایی بالا به‌ویژه از لحاظ دارا بودن ویتامین ث و مواد معدنی در سراسر جهان طرفداران زیادی دارد (Aghaeifard *et al.*, 2015). این گیاه منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند اسیدهای فنلی، آنتوسیانین، فلاونوئیدها و گلوتاتیون بوده که فعالیت رادیکال‌های آزاد را کاهش داده و به جلوگیری از تنش اکسیداتیو کمک می‌نماید (Jin *et al.*, 2011). میوه توت‌فرنگی از نظر گیاه‌شناسی به‌عنوان یک میوه مجتمع در نظر گرفته می‌شود و یک میوه حقیقی نیست. قسمت خوراکی میوه از نهنج بسیار بزرگ گل که با تعداد زیادی از میوه‌های حقیقی یا فندقه‌هایی که در واقع بذور گیاه هستند تشکیل شده است (Hancock, 2000). تولید توت‌فرنگی در جهان بالغ بر ۹ میلیون تن

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: f.varasteh@gau.ac.ir
https://doi.org/10.22067/jhs.2023.81120.1240

است (FAOSTAT, 2021). میوه توت‌فرنگی به‌دلیل دارا بودن بافت ترد و حساس، آسیب‌پذیر بودن در برابر صدمه مکانیکی، میزان بالای تنفس و حساسیت به پوسیدگی قارچی بسیار فسادپذیر می‌باشد. بنابراین، توت‌فرنگی تازه، عمر پس از برداشت بسیار محدودی دارد و می‌توان آن را فقط برای مدت کوتاهی نگهداری کرد (Salami et al., 2010). میوه توت‌فرنگی در برابر تنش دمای بالا و فساد قارچی بسیار حساس بوده و به‌طور معمول برای تضمین عملکرد و کیفیت این میوه یک برنامه محلول‌پاشی گسترده تنظیم می‌شود که گاهی اوقات تهدیدی جدی برای سلامت مصرف‌کننده است. با این‌حال، توسعه روش‌های سازگار با محیط زیست، اقتصادی و ایمن‌تر مانند استفاده از مواد طبیعی همیشه در کانون توجه بخش تحقیق و توسعه بوده است (García-Pastor et al., 2020Anwar et al., 2018). اسید آسکوربیک (ویتامین C) آنتی‌اکسیدان مهمی است که دارای ارزش تغذیه‌ای برای انسان می‌باشد. این اسید آلی پیش‌ماده اولیه در مسیرهای چرخه‌ای بوده و در سمیت‌زدایی و خنثی کردن رادیکال‌های سوپراکسید و اکسیژن منفرد و تحمل گیاهان در برابر تنش فتواکسیداتیو نقش دارد (Asghari et al., Tassi et al., 2008 ;2016). اسید آسکوربیک کوفاکتور بسیاری از آنزیم‌های هیدروکسی بوده در حضور اسیدآسکوربیک فعالیت چرخه گلوتاتیون–آسکوربات و کاتالاز افزایش یافته و سیستم دفاعی گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو تقویت می‌شود (Farokhzad & Asghari, 2016). همچنین اسید آسکوربیک در تنظیم تقسیم و بزرگ شدن سلول، فتوسنتز و سایر فرآیندهای نموی در گیاهان دخالت دارد (Asghari et al., ;2016 Tassi et al., 2008). اسید آسکوربیک به‌دلیل فعالیت شبیه به اکسین‌های طبیعی و نقش مؤثر آن بر بیوسنتز کربوهیدرات‌ها، در عملکرد گیاهی تأثیر مثبت داشته (Shazly et al., 2013) و ماده طبیعی است که برای بهبود رشد و نمو و میوه‌دهی درختان میوه مورد استفاده قرار گرفته است (Singh & Mirza, 2018). محلول‌پاشی اسید اسکوربیک پیش از برداشت، سبب بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی انگور شد (Kumar et al., Abde-;Salam et al., 2016 2017). اسید اگزالیک یک اسید آلی است که به‌طور وسیع در موجودات مختلف وجود دارد و یک جزء طبیعی بسیاری از گیاهان می‌باشد (Oz et al., 2016). اسید اگزالیک به‌عنوان یک محصول نهایی متابولیکی در گیاهان، دارای عملکردهای فیزیولوژیکی بسیاری است و یکی از اصلی‌ترین آن‌ها، القای مقاومت در برابر بیماری و تنش‌های محیطی با افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در مقاومت و متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل، فلاونوئید و غیره می‌باشد (Martinez-Espla et al., 2014). مشخص شده است که استفاده از اسید اگزالیک با افزایش برخی فعالیت‌های فیزیولوژیک در داخل گیاه، یک روش کارآمد برای جلوگیری از پیری میوه‌ها می‌باشد (Oz et al., 2016). اسید اگزالیک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی نقش مهمی در ممانعت از فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده داشته و هم چنین در جلوگیری از رشد عوامل میکروبی روی سطح میوه‌ها نیز مؤثر است (Zheng & Tian, 2006). استفاده قبل از برداشت اسید اگزالیک باعث افزایش اندازه میوه و عملکرد، ترکیبات زیست‌فعال و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در گیلاس، انار و لیمو گردید (Martinez-Espla et al., 2014; Serna-Escolano et al., 2020; García-Pastor et al., 2021). گزارش شده که با محلول‌پاشی اسید اگزالیک روی درختان کیوی، کیفیت و مقاومت به بیماری میوه‌ها در طی دوره نگهداری افزایش یافت (Zhu et al., 2016). همچنین با محلول پاشی قبل از برداشت درختان زردآلو با غلظت‌های مختلف اسید اگزالیک اندازه میوه و دیگر پارامترهای کیفی میوه بهبود یافت و باعث تأُخیر در رسیدن میوه و حفظ آنتی‌اکسیدان‌های بیشتر در میوه زردآلو در شرایط انبارداری شد (Ahmed Sevinc Uzumcu et al., 2020; et al., 2021). تیمار قبل از برداشت با اسید اگزالیک سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی را افزایش داد و کیفیت آلو را در زمان برداشت و در طول دوره نگهداری پس از برداشت بهبود بخشید (Martínez-Esplá et al., 2019).

با توجه به اهمیت صفت‌های فیزیولوژیکی گیاه در تولید عملکرد کمی و کیفی توت‌فرنگی و از طرف دیگر نبود اطلاعات کافی در مورد اثر محلول‌پاشی برگی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر صفات فیزیولوژیک گیاه، این پژوهش با هدف بررسی برخی صفات فیزیولوژیک و کیفی برگ و میوه توت‌فرنگی تحت تأثیر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک انجام شد.

مواد و روش‌ها

مکان و مواد گیاهی آزمایش

مزرعه‌ای در روستای دارکلاته از توابع شهرستان رامیان استان گلستان برای انجام آزمایش انتخاب شد. پس از آماده نمودن زمین، کوددهی قبل از کاشت براساس آزمون خاک (جدول ۱) انجام شد. کودهای پایه شامل فسفات دی‌آمونیوم (۴۶ درصد فسفر و ۱۸ درصد نیتروژن) به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، سولفات پتاسیم (۵۰ درصد پتاسیم و ۱۷/۵ درصد گوگرد) به میزان ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار و سولفات آمونیوم (۲۱ درصد نیتروژن و ۲۴ درصد گوگرد) به میزان ۵۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کاشت نشاء و در زمان آماده‌سازی بستر اضافه شد. نشاهای توت‌فرنگی (رقم 'کاماروسا') با میانگین قطر حدود یک سانتی‌متر از مزارع پرورش نهال واقع در شهرستان رامیان بخش فندرسک تهیه گردید. ردیف‌هایی به طول ۵۰ متر و عرض ۵۰ سانتی‌متر با فواصل پشته‌ها ۴۰ سانتی‌متر ایجاد، و در اواسط پاییز، نشاهای توت‌فرنگی رقم 'کاماروسا' در سه بلوک با سه تکرار (مجموعاً نه بلوک) با فواصل روی ردیف ۳۰ سانتی‌متر به‌صورت دو

ردیفه کشت شد. با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه و کشت در فضای باز، سرمادهی بوته‌ها در مزرعه اصلی انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل محلول‌پاشی در سه سطح: عدم محلول‌پاشی به‌عنوان شاهد، محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و محلول‌پاشی اسید اگزالیک بود. محلول‌پاشی برگی اسیدآسکوربیک با غلظت یک میلی‌مولار (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) و اسید اگزالیک با غلظت یک میلی‌مولار (تهیه شده از شرکت سیگما-آلدریچ اسپانیا) در سه مرحله (از مرحله اتمام گلدهی تا مرحله میوه سبز) به فواصل هر شش روز یک‌بار انجام شد. در نهایت، از هر واحد آزمایشی سه بوته انتخاب و نمونه‌های برگ (برای صفات فیزیولوژیک) تهیه و در داخل فویل آلومینیومی قرار گرفته و بلافاصله در داخل ازت مایع قرار داده شد و سپس به آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان جهت اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک انتقال داده شد. همچنین بعد از تغییر رنگ حداقل سه‌چهارم سطح میوه‌های توت‌فرنگی به قرمز، میوه‌ها از هر پلات جداگانه برداشت و بلافاصله به آزمایشگاه فیزیولوژی برای اندازه‌گیری صفات کیفی میوه منتقل شدند.

جدول ۱- تجزیه فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه در عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری خاک

Table 1- Physical and chemical analysis of the field soil (0-30 cm depth)

عمق Depth (cm)	هدایت الکتریکی EC (mmohs.cm^{-1})	اسیدیته کل‌اشباع Total saturated acidity (%)	مواد خنثی شونده Neutralizing substances (%)	کربن‌آلی Organic carbon (%)	ازت‌کل Total nitrogen (%)	فسفر قابل جذب Absorbable phosphorus (ppm)	پتاسیم قابل جذب Absorbable potassium (ppm)	رس Clay (%)	سیلت Silt (%)	ماسه Sand (%)	بافت Texture
0-30	0.8	7.6	3.0	1.09	0.11	95.5	200	30	60	10	لومی رسی سیلتی Silty clay loam

ارزیابی صفات

وزن تر، خشک و سطح برگ

اندازه‌گیری سطح برگ با استفاده از سطح برگ‌سنج (Delta-T Devices، ساخت کشور انگلستان) انجام شد. به این منظور سطح برگ دو بوته از هر واحد آزمایشی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. وزن تر و خشک برگ با استفاده از آون ۵۰ لیتری (برند Behdad، ساخت کشور ایران) در دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد و مدت زمان ۴۸ ساعت و با ترازوی دقیق دیجیتال (مدل ANDGF-300، ساخت کشور ژاپن) با دقت ۰/۰۱ گرم انجام شد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

برای اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ تازه را خرد کرده و در داخل لوله آزمایش ریخته سپس ۱۰ میلی‌لیتر دی‌متیل سولفوکسید اسید خالص به آن اضافه کرده و بعد به مدت سه ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا رنگیزه‌ها استخراج و بافت برگی کاملاً بی‌رنگ گردد. سپس بعد از صاف کردن نمونه‌ها با کاغذ صافی واتمن، یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده را برداشته به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده و میزان جذب محلول به‌دست آمده با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل 2800 Uv/VIS، برند Unico، ساخت کشور آمریکا) در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵، ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. سپس میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از رابطه‌های ۱ تا ۴ برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد (Barnes *et al.*, 1992).

Chlorophyll a=(12.7×$O.D_{663}$)-(2.69×$O.D_{645}$) × حجم ×.میزان رقیق‌سازی / وزن نمونه × ۱۰۰۰ (۱)

Chlorophyll b =(22.7×$O.D_{645}$)-(4.68×$O.D_{645}$) × حجم ×.میزان رقیق‌سازی / وزن نمونه × ۱۰۰۰ (۲)

Total chlorophylls =(20.2×$O.D_{645}$)+(8.02×$O.D_{663}$) × حجم ×.میزان رقیق‌سازی / وزن نمونه × ۱۰۰۰ (۳)

Carotenoids =(7.6×$O.D_{480}$)-(1.49×$O.D_{510}$) × حجم ×.میزان رقیق‌سازی / وزن نمونه × ۱۰۰۰ (۴)

قند کل

برای سنجش قند کل، ابتدا ۴۰ میلی‌گرم از برگ تازه گیاه با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم (بن‌ماری) با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره تغلیظ شده را با ۳ میلی‌لیتر آنترون مخلوط

نموده و به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. میزان جذب نور هر یک از نمونه‌ها پس از سردشدن در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از معادله استاندارد گلوگز، میزان قند کل بر حسب میکروگرم بر گرم محاسبه گردید (Mirshekari *et al.*, 2017).

فنل و فلاونوئید کل

به‌منظور اندازه‌گیری فنل کل، ترکیبات فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ابتدا عصاره متانولی با نسبت ۱ به ۱۰ تهیه شد. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و روی شیکر قرار داده شد و سپس به‌مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. از قسمت فوقانی عصاره، برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی مورد نظر استفاده گردید. جهت اندازه‌گیری فنل کل از معرف فولین سیوکالتیو استفاده شد. ۲۰ میکرولیتر عصاره متانولی با۱۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتیو و ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و پس از ۵ الی ۸ دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم یک مولار به آن افزوده شد. نمونه‌ها پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی و حمام بخار ۴۰ درجه سانتی گراد، در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شدند. با قرار دادن عدد جذب نمونه‌ها در معادله خط، میزان فنل کل بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک بر گرم بدست آمد (Slinkard and Singleton, 1997). محتوای فلاونوئید کل از روش آلومینیوم کلراید بدست آمد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید۱۰٪ در اتانول، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و نیم ساعت در تاریکی قرار داده و سپس توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت گردید. با قراردادن عدد جذب نمونه در معادله خط، میزان فلاونوئید کل بر حسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم بدست آمد (Chang *et al.*, 2002).

فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی یا درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، از روش (Boudet, 2007) محاسبه شد. مخلوط واکنش شامل ۲ میلی لیتر DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار و ۲ میلی‌لیتر عصاره متانولی بود. لوله‌های آزمایش به‌مدت ۱۵ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد و قرائت با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر انجام شد. نمونه شاهد حاوی ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول بود. درصد مهار رادیکال آزاد با استفاده از رابطه ۵ بدست آمد:

$$\text{فعالیت آنتی‌اکسیدانی (٪)} = [(Ac-As)/Ac] \times 100 \quad (۵)$$

As= جذب نمونه

Ac= جذب شاهد

مواد جامد محلول

غلظت مواد جامد محلول میوه با استفاده از دستگاه رفرکتومتر (مدل ABBE، برند CETI، ساخت کشور بلژیک) بر حسب درصد اندازه‌گیری شد (Shiukhy, 2022).

اسیدیته قابل تیتر

برای تعیین اسیدیته قابل تیتر میوه از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH برابر ۸/۱ استفاده شد. پس از قرار دادن میزان سود مصرفی در رابطه ۶، اسیدیته براساس میلی‌گرم اسید سیتریک در ۱۰۰ گرم بافت میوه محاسبه و نتایج به صورت درصد بیان گردید (Varasteh *et al.*, 2017).

$$TA = \frac{100 \times M \times N \times V}{S \times n} \quad (۶)$$

در این رابطه TA: مقدار اسیدیته براساس میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم نمونه، M: وزن مولکولی اسید غالب، N: ظرفیت اسید غالب، V: حجم سود مصرفی، S: وزن نمونه عصاره‌گیری شده،N: نرمالیته سود مصرفی می‌باشد.

شاخص طعم

از تقسیم مواد جامد محلول (TSS) بر اسیدیته قابل تیتر (TA)، شاخص طعم میوه محاسبه شد.

ویتامین‌ث

ویتامین‌ث میوه به‌وسیله تیتراسیون با محلول یدیت اندازه‌گیری شد. به‌منظور تیتر کردن نمونه‌های آب‌میوه، ۲۰ میلی‌لیتر از نمونه آب میوه به همراه ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر از محلول نشاسته ۰/۵ درصد با هم ترکیب شد و این ترکیب با محلول ید تا زمان ظهور رنگ آبی تیره تیتر گردید و با توجه به‌اینکه هر میلی‌لیتر از معرف مصرفی نشانگر وجود ۰/۸۸ میلی‌گرم اسید آسکوربیک (ویتامین ث) است، مقدار ویتامین ث بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب میوه بیان گردید (Khosroabadi *et al.*, 2016).

آنتوسیانین کل

اندازه‌گیری آنتوسیانین کل میوه با روش واگنر (Wagner, 1979) صورت پذیرفت. بدین‌صورت که یک گرم از نمونه را با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی ساییده و عصاره برای ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (دمای یخچال) قرار داده شد. پس از این مدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰ دور عصاره را سانتریفیوژ نموده و جذب محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر، در طول موج ۵۲۰ نانومتر

خوانده شد. در نهایت میزان آنتوسیانین کل از رابطه ۷ محاسبه و برحسب میکرومول در گرم وزن تر بیان گردید.

$$A=€bc \quad (۷)$$

در این معادله A: مقدار جذب، €: ضریب خاموشی معادل $۳۳۰۰ mMcm^{-1}$، b: عرض کووت اندازه‌گیری برابر ۱ سانتی‌متر، c: آنتوسیانین برحسب مول بر گرم وزن تر می‌باشد.

تجزیه آماری داده‌ها

در نهایت داده‌های به‌دست آمده، براساس طرح آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.2 تجزیه گردید. مقایسه میانگین صفات به روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج

نتایج نشان داد که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک اثر معنی‌داری بر سطح برگ، وزن تر و خشک برگ، میزان کلروفیل های a، b و کل، کارتنوئید کل، قند کل، فلاونوئید و فنل کل برگ توت‌فرنگی داشت (جدول ۲).

بیشترین سطح برگ در تیمار اسید اگزالیک (۳۱۴/۰۸ سانتی‌متر مربع) ثبت شد و کمترین سطح در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۱). بر طبق نتایج مشخص شد که محلول‌پاشی در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی اسید آلی باعث افزایش معنی‌دار سطح برگ گردید (شکل ۱a). تیمارهای مورد استفاده اثر معنی‌داری بر وزن تر و خشک برگ داشت و بیشترین وزن تر برگ در تیمار اسید اگزالیک (۱/۷۸ گرم) بود که در مقایسه با تیمار شاهد افزایش ۵ درصدی نشان داد (شکل ۱b). در وزن خشک برگ نیز مشخص شد که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک اثر افزاینده‌ای در مقایسه با تیمار عدم محلول‌پاشی داشت (شکل ۱b). در گیاهان، اسید اگزالیک از اسید آسکوربیک سنتز می‌شود که این نیز به نوبه خود از گلوگز ساخته می شود (Proietti *et al.*, 2004). افزایش سطح برگ حاکی از القا فرآیند ماده‌سازی توسط اسید آسکوربیک است (Pavet *et al.*, 2005). اسید آسکوربیک به‌عنوان یک مولکول کوچک ولی با توان فیزیولوژیک زیاد می‌تواند فرآیندهای ماده‌سازی و به‌ویژه ساخت قندها را در جهتی القا کند که در نهایت منجر به رشد گردد. اسید آسکوربیک موجب تحریک تقسیم سلولی شده و همچنین موجب توسعه سلولی و رشد طولی می‌شود (El-Lethy *et al.*, 2011).

اسید آسکوربیک به‌دلیل نقش آن به‌عنوان کوفاکتور مهم در بیوسنتز بسیاری از هورمون‌های گیاهی از طریق احیای این هورمون ها، سبب تعدیل آثار تنش، افزایش تقسیم و توسعه سلولی و افزایش ارتفاع بوته و زیست‌توده برگ می‌شود (Tagi *et al.*, 2011). رضوی و حاجیلو (Razavi & Hajilou, 2016) گزارش کردند که کاربرد اسید اگزالیک با غلظت ۵ میلی‌مولار باعث افزایش رشد برگی و زیست‌توده تولیدی در هلو گردید که مطابق با نتایج حاصل از این پژوهش بود. همچنین مشخص شده است که محلول‌پاشی گیاهان توت فرنگی رقم چندلر کشت شده در مزرعه در مرحله گلدهی با اسید اگزالیک به‌ویژه در غلظت کم (۱و ۲ میلی‌مولار)، منجر به افزایش سطح نیتروژن، فسفر و پتاسیم در دمبرگ و افزایش شاخص‌های رشد گیاه از جمله زیست توده خشک، سطح برگ، نسبت سطح ویژه برگ و نسبت سطح برگ، نسبت وزن ریشه، نسبت ریشه به ساقه گردید. اما اسید اگزالیک بر کلروفیل برگ و وزن میوه تازه اثر منفی داشت(Anwar *et al.*, 2018).

اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل برگ معنی‌دار بود (جدول ۲) و بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار اسید اگزالیک ثبت شد (۰/۴۳ میکروگرم بر گرم وزن تر)، که در مقایسه با تیمار شاهد افزایش ۲۵/۵ درصدی نشان داد (شکل ۲). برعکس کلروفیل a به‌عنوان رنگیزه اصلی، بیشترین میزان کلروفیل b در محلول‌پاشی اسید آسکوربیک (۰/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد. با توجه به شکل ۲، بیشترین کلروفیل کل در تیمار اسید آسکوربیک مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد، افزایش ۲۶/۷ درصدی داشت. اثر تیمار محلول‌پاشی بر میزان کارتنوئید کل برگ نیز معنی‌دار بود، به‌طوری‌که در تیمار اسید اگزالیک بالاترین میزان کارتنوئید کل ثبت شد و کمترین میزان هم در تیمار اسید آسکوربیک به‌دست آمد. میزان کارتنوئید کل در تیمار اسید اگزالیک نسبت به تیمار شاهد ۲۴/۱ درصد افزایش نشان داد (شکل ۲). اسید آسکوربیک به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود، از تخریب کلروفیل جلوگیری می‌کند و به‌طور غیرمستقیم سبب افزایش آن می‌شود (Dolatabadian *et al.*, 2009). تحقیقات نشان داده است استفاده از اسید آسکوربیک در باقلا سبب افزایش معنی‌داری در میزان کلروفیل a و b و کارتنوئید شد. افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های این گیاه ممکن است به علت نقش این رنگیزه‌ها در محافظت از کلروپلاست در برابر آسیب‌های اکسیداتیو باشد (Munne-Bosch *et al.*, 2001).

به‌علاوه به‌دلیل عمل شبه اکسین، این اسید آلی به‌عنوان محرک رشد و فعالیت‌های فیزیولوژیک گیاهان عمل می‌نماید (Singh & Mirza, 2018). محلول‌پاشی بوته‌های توت‌فرنگی با ۱ و ۲ میلی‌مولار اسید اگزالیک در مرحله گل‌دهی منجر به افزایش رشد رویشی و تعداد میوه در بوته شد (Anwar *et al.*, 2018). همچنین افزایش عملکرد و وزن میوه درختان گیلاس و آلو با محلول‌پاشی اسید اگزالیک گزارش شده است که دلیل آن افزایش فتوسنتز خالص در درختان تیمار شده با اسید اگزالیک و/یا افزایش قدرت سینک میوه های در حال رشد می‌باشد (Martinez-Espla *et al.*, 2014; Martinez-Espla *et al.*, 2019;).

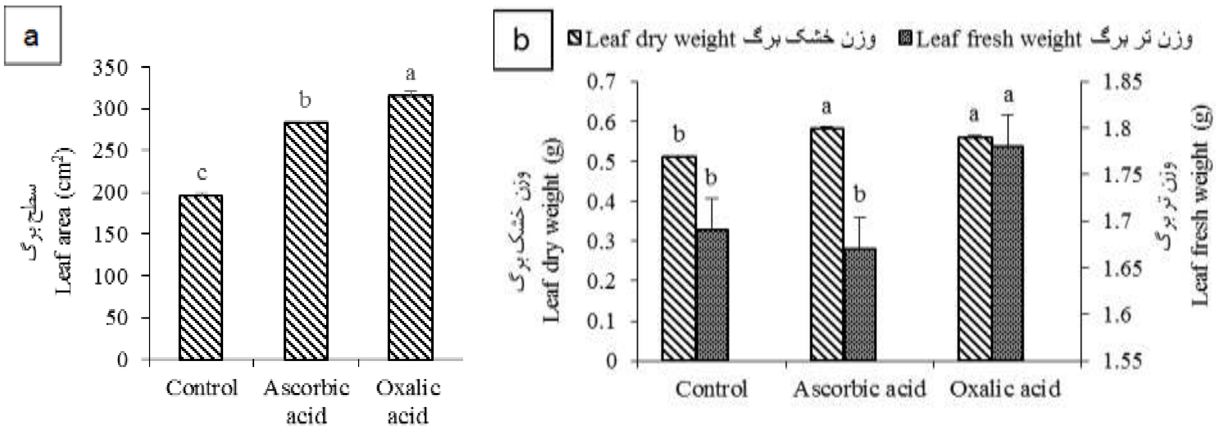
جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر صفات فیزیولوژیک برگ توت‌فرنگی

Table 2- ANOVA (mean squares) for the effect of foliar application of ascorbic acid and oxalic acid on the physiological traits of strawberry leaf

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	سطح برگ Leaf area	وزن تر Fresh weight	وزن خشک Dry weight	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophylls	کارتنوئید کل Total carotenoids	قند کل Total sugars	فنل کل Total phenols	فلاونوئید کل Total flavonoids
بلوک Block	2	0.00004^{ns}	0.000005^{ns}	0.00004^{ns}	0.0009^{ns}	0.0005^{ns}	0.006^{ns}	0.001^{ns}	0.0051^{ns}	0.0038^{ns}	0.0005^{ns}
تیمار Treatment	2	0.0097**	0.0089**	0.0022**	0.0097**	0.0131**	0.0024**	0.061*	0.3819**	0.1800**	0.0013**
خطا Error	6	0.000002	0.0000008	0.000004	0.00003	0.00002	0.0001	0.0045	0.00004	0.000004	0.0000001
ضریب تغییرات C.V (%)	-	7.70	7.17	9.39	5.13	8.16	5.19	9.10	5.80	4.01	8.50

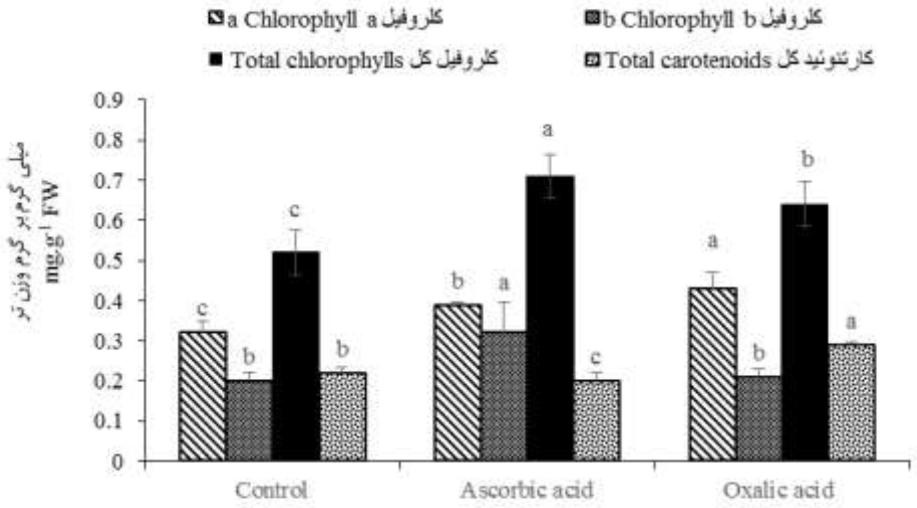
^{ns}، ** و * به‌ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

^{ns}, ** and *: non-significant, and significant at $p \leq 0.01$ and $p \leq 0.05$, respectively.



شکل ۱- اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر سطح برگ (a) و وزن خشک و تر برگ (b) توت‌فرنگی

Figure 1- The effect of foliar application of ascorbic acid and oxalic acid on leaf area (a) and leaf dry and fresh weights (b) of strawberry (LSD, *p≤0.05*)



شکل ۲- اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر رنگیزه‌های فتوسنتزی توت‌فرنگی

Figure 2- The effect of foliar application of ascorbic acid and oxalic acid on strawberry photosynthetic pigments (LSD, *p≤0.05*)

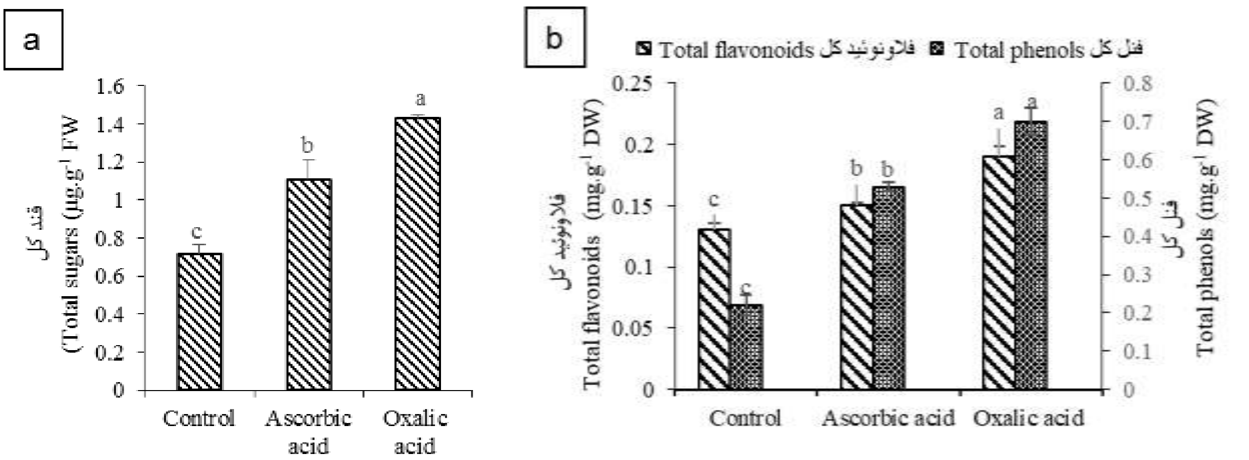
کاربرد اسید اگزالیک در گیاه جوجوبا[1] به‌دلیل افزایش سه دسته از پروتئین‌های مرتبط با فتوسنتز (فعال کننده روبیسکو[2]، پروتئین بتا مرتبط با زیر ساخت واحد بزرگ روبیسکو[3] و پروتئین کمپلکس تولیدکننده اکسیژن فتوسیستم دو[4]) منجر به افزایش میزان کلروفیل و فتوسنتز خالص گیاه گردید (Martinez-Wang *et al.*, 2009; Espla *et al.*, 2014). میزان کلروفیل و کارتنوئید میوه تحت تیمار اسید اگزالیک نسبت به تیمار شاهد آهسته‌تر کاهش می‌یابد که دلیل آن کاهش تولید اتیلن و کاهش فعالیت پلی گالاکتروناز و پکتین متیل استراز است (Wu *et al.*, 2011). کارتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه کمکی در فتوسنتز مؤثر هستند و نقش‌های مهم دیگری چون محافظت از غشاهای تیلاکوئیدی و جلوگیری از فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها را نیز بر عهده دارند (Damatta & Cochicho Ramalho, 2006). کارتنوئیدها با استفاده از چرخه گزانتوفیل و با واکنش‌های اپوکسیداسیون و دپوکسیداسیون، مصرف اکسیژن را کاهش داده و از

1- Jujuba
2- RuBisCO activase
3- RuBisCO large subunit-binding protein subunit β
4- PSII oxygen-evolving complex protein

کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون محافظت می‌کنند و بدین وسیله ماندگاری گیاه را افزایش می‌دهند (Muller-Moule *et al.*, 2002).

اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایش از نظر میزان صفات قند و فنل و فلاونوئید کل برگ وجود داشت به‌طوری‌که بیشترین مقدار قند کل برگ (۱/۴۳ میکروگرم بر گرم وزن تر) در تیمار اسید اگزالیک ثبت شد. همچنین کاربرد اسید آسکوربیک نیز قند کل برگ توت‌فرنگی را نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۳a). محلول‌پاشی برگی اسید اگزالیک روی توت‌فرنگی سبب افزایش بیشتر میزان فنل در برگ نسبت به تیمار اسید آسکوربیک و شاهد شد (شکل ۳b). بیشترین میزان فلاونوئید کل برگ نیز در تیمار اسید اگزالیک (۰/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد، که در مقایسه با تیمار شاهد افزایش ۳۱/۵ درصدی داشت (شکل ۳b).

گزارش‌هایی مبنی بر افزایش بیشتر مقدار قندهای محلول در گیاهانی که تحت محلول‌پاشی اسید آسکوربیک واقع شده بودند نسبت به شاهد (بدون اسید آسکوربیک) وجود دارد (Abd El-Aziz *et al.*, 2006; Sheteawi, 2007; Dolatabadian *et al.*, 2008). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک به علت تأثیر آن در افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، باعث افزایش فتوسنتز شده و در نتیجه میزان کربوهیدرات را افزایش می‌دهد (Fayed, 2010) که این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد. اسید آسکوربیک با افزایش هدایت روزنه‌ای، میزان کلروفیل، سطح و وزن برگ‌ها، نقش مثبت خود را در افزایش فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها ایفا می‌کند (Zulaikha, 2013). محلول‌پاشی اسید اگزالیک روی گیلاس باعث افزایش میزان فنل، آنتوسیانین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برگ گیلاس می‌شود که نتایج حاصل از این پژوهش را تائید می‌نماید (Martinez-Espla *et al.*, 2014). فلاونوئیدها به علت داشتن توانائی آنتی‌اکسیدانی، ظرفیت انتقال الکترون‌ها، کاهش پراکسیداسیون هیدروژن، کاهش رادیکال‌های آلفاتوکوفرول دارای اثرات حفاظتی مفیدی می‌باشند، علاوه بر این مشخص شده است که ترکیبات فلاونوئیدی دارای خاصیت ضد جهش، ضد میکروبی، ضد ویروس و ضد سرطان نیز هستند (Ghorbani *et al.*, 2010). از آنجایی که اسید آسکوربیک باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز می‌گردد می‌تواند باعث فعال شدن مسیر ساخت مواد فنلی به‌ویژه فلاونوئیدها شود (He & Luo, 2007). اسید آسکوربیک در سیتوسل، واکوئل، میتوکندری و دیواره سلولی گیاه وجود دارد و همراه با ترکیبات دیگری مانند توکوفرول، کارتنوئیدها و فنل‌ها و فلاونوئیدها سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی را در گیاهان تشکیل می‌دهد. این اسید از آنتی‌اکسیدان‌های بسیار قوی می‌باشد که با انواع اکسیژن‌های فعال ترکیب شده و با احیای رادیکال‌های آزاد موجب بازدارندگی آن‌ها می‌شود (Smirnoff, 2000).



شکل ۳- اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر قند کل (a) و فلاونوئید و فنل کل (b) برگ توت‌فرنگی

Figure 3- The effect of foliar application of ascorbic acid and oxalic acid on total sugars (a), total phenols and total flavonoids (b) of strawberry leaf (LSD, $p\leq0.05$)

محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و اگزالیک باعث افزایش مواد جامد محلول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئید کل میوه نسبت به شاهد شد. همچنین میوه‌های برداشت شده از گیاهان تیمار شده با اسید اگزالیک قبل از برداشت، آنتوسیانین و فنل کل بالاتری نسبت به میوه‌های برداشت شده از گیاهان تیمار شده با اسید آسکوربیک و شاهد دارا بودند. میوه‌های گیاهان تیمار شده با اسید آسکوربیک نسبت به گیاهان تیمار شده با اسید اگزالیک ویتامین ث و اسیدیته قابل تیتر کمتر و شاخص طعم بالاتری داشتند (جدول ۳).

پژوهش زو و همکاران (Zhu *et al.*, 2016) نشان داد که محلول‌پاشی اسید اگزالیک با غلظت ۵ میلی‌مولار قبل از برداشت در

میوه‌ی کیوی سبب بهبود کیفیت میوه و مقاومت به بیماری‌ها شد. همچنین تیمار درختان کیوی با ۵ میلی‌مول در لیتر اسید اگزالیک، ۱۳۰، ۱۳۷ یا ۱۴۴ روز پس از تمام گل، باعث تاخیر در رسیدن میوه، افزایش محتوای مواد جامد محلول، کاهش اسید قابل تیتر و همچنین افزایش محتوای اسید اسکوربیک در میوه کیوی در طی دوره نگهداری پس از برداشت شد. بنابراین، محلول‌پاشی قبل از برداشت اسید اگزالیک می‌تواند یک روش ارزشمند برای بهبود کیفیت در طول دوره پس از برداشت میوه کیوی باشد (Maratab *et al.*, 2019).

کاربرد اسید اگزالیک همچنین سبب افزایش عمر قفسه‌ای در تمام رقم‌های گیلاس تیمار شده با این اسید آلی گردید. تیمار میوه‌ی گیلاس با اسید اگزالیک با غلظت دو میلی‌مولار قبل از برداشت، سبب افزایش اندازه میوه و افزایش آنتوسیانین کل، فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در طی فرآیند رسیدن در میوه‌های گیلاس نسبت به میوه‌های شاهد شد و میوه‌هایی با ترکیبات فعالی زیستی و پتانسیل آنتی‌اکسیدانی بالا در برداشت‌های تجاری تولید شد (Martinez-Espla *et al.*, 2014).

جدول ۳- اثر محلول‌پاشی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک بر برخی صفات میوه توت‌فرنگی

Table 3- The effect of ascorbic acid and oxalic acid on some traits of strawberry fruit

تیمار Treatment	مواد جامد محلول Total soluble solids (%)	اسیدیته قابل تیتر Titratable acidity (%)	شاخص طعم Flavor index	ویتامین ث Vitamin C ($mg.100\ ml^{-1}$)	فلاوونویید کل Total Flavonoids ($mg.g^{-1}$ DW)	فنل کل Total phenols (mg/gDW)	آنتوسیانین کل Total anthocyanins (µmol/gDW)	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity (%)
شاهد Control	8.066^{b}	0.25^{ab}	32.71^{b}	17.6^{a}	0.17^{b}	0.54^{b}	0.37^{b}	77.93^{b}
اسید آسکوربیک Ascorbic acid	10.63^{a}	0.23^{b}	46.75^{a}	13.49^{b}	0.30^{a}	0.27^{c}	0.55^{b}	77.93^{b}
اسید اگزالیک Oxalic acid	9.73^{a}	0.30^{a}	31.95^{b}	16.4^{a}	0.24^{ab}	1.15^{a}	0.86^{a}	92.40^{a}

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار تفاوت ندارند.

In each column, the means that have common letters do not have a statistically significant difference at the 5% of probability level based on the LSD test.

همچنین محلول‌پاشی اسید اگزالیک با غلظت یک میلی‌مولار قبل از برداشت در آلو سبب افزایش کیفیت میوه در طول انبارداری گردید (Martinez-Espla *et al.*, 2019). رضوی و حاجیلو (Razavi & Hajilou, 2016) گزارش کردند که محلول‌پاشی اسید اگزالیک با غلظت پنج میلی‌مولار دو هفته قبل از برداشت هلو سبب افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و کیفیت تغذیه‌ای میوه گردید. همچنین اثرات مفید اسیداگزالیک در حفظ مواد فنلی و فلاونوئیدی کل در ازگیل ژاپنی گزارش شده است (Oz *et al.*, 2016). اسید اگزالیک سبب کاهش از دست رفتن فنل کل و افزایش مقدار اسید آسکوربیک می‌شود، بنابراین می‌تواند در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مؤثر باشد (Khosroabadi *et al.*, 2016). محلول‌پاشی اسید آسکوربیک روی سیب رقم رداسپار با غلظت ۴۰۰ قسمت در میلیون سبب افزایش مواد جامد محلول کل در میوه و افزایش آنتوسیانین شد و در مجموع باعث بهبود خصوصیات کیفی و رنگ‌گیری میوه سبب گردید (Farokhzad & Asghari, 2016). ارجین و همکاران (Ergin *et al.*, 2014) بیان نمودند که محلول‌پاشی اسید آسکوربیک با غلظت ۳ میلی‌مولار روی بوته‌های توت‌فرنگی تحت تنش گرما، میزان خسارت را کاهش داد. اسید اگزالیک علاوه بر افزایش تعداد میوه در بوته، خواص حسی میوه توت‌فرنگی را نیز عمدتاً به دلیل افزایش نسبت قند به اسید، مقدار اسید آسکوربیک و قندهای غیر احیاکننده، بهبود بخشید و به-طور کلی، محلول‌پاشی یک میلی‌مولار اسید اگزالیک باعث رشد رویشی و افزایش عملکرد و کیفیت میوه توت‌فرنگی شد (Anwar *et al.*, 2018). محلول‌پاشی درختان لیمو با اسید اگزالیک، از کاهش وزن میوه‌ها در طی دوره انبارداری کاست و باعث حفظ سفتی، مواد جامد محلول و اسیدیته کل نسبت به گروه شاهد گردید. محتوای فنل کل فلاودو و آب میوه درختان تیمار شده با اسید اگزالیک بیشتر از گروه شاهد بود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل با اولین تیمار اسید اگزالیک قبل از برداشت شروع و در طول رشد میوه روی درخت تا زمان برداشت حفظ شد. بهبود ماندگاری و حفظ کیفیت میوه را می‌توان به تقویت سیستم‌های آنتی اکسیدانی نسبت داد (Serna-Escolano *et al.*, 2021). ترکیبات زیست‌فعال از جمله فنل کل، آنتوسیانین کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در میوه های انار درختان تیمار شده با اسید اگزالیک، نسبت به میوه‌های درختان شاهد بیشتر بود (García-Pastor *et al.*, 2020).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که محلول‌پاشی برگی اسید

آسکوربیک و اسید اگزالیک اثر معنی‌داری بر گیاه توت‌فرنگی داشته و باعث بهبود ویژگی‌های فیزیولوژیک برگ و میوه در این گیاه شد. اثر اسید اگزالیک بر صفت‌های مورد مطالعه نسبت به اسید آسکوربیک بیشتر بود، ولی با توجه به این‌که اسید آسکوربیک یکی از پیش‌ماده‌ها در مسیر سنتز اسید اگزالیک می‌باشد، بنابراین در کل به نظر می‌رسد تغییرات ویژگی‌های فیزیولوژیک برگ و میوه به‌طور غیرمستقیم تحت تأثیر اسید آسکوربیک می‌باشد. اسید آسکوربیک به‌عنوان کوفاکتور در واکنش‌های فتوسنتزی عمل کرده و به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود از تخریب کلروفیل و کارتنوئیدها جلوگیری می‌کند و با دخالت در تقسیم سلولی و افزایش سطح برگ‌ها، باعث افزایش فتوسنتز و ساخت کربوهیدرات‌ها می‌گردد. به علاوه محلول‌پاشی با اسید آسکوربیک و اگزالیک باعث افزایش مواد جامد محلول، فعالیت آنتی اکسیدانی و فلاونوئید میوه نسبت به شاهد شد. به‌طور کلی با توجه به نتایج مشخص شد که محلول‌پاشی برگی اسید آسکوربیک و اسید اگزالیک با افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و زیست‌توده باعث بهبود صفات کیفی و محتوای ترکیبات مرتبط با سلامتی در میوه توت-فرنگی رقم 'کاماروسا' شد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در فراهم نمودن مواد و تجهیزات مورد نیاز برای انجام این پژوهش قدردانی می‌گردد.

References

1. Abd El-Aziz, N.G., Mazher Azz, A.M., & El-Habba, E. (2006). Effect of foliar spraying ascorbic acid on growth and chemical constituents of *Khaya senegalensis* growth under salt condition. *American- Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, *1*(3), 207-214.
2. Abdel-Salam, M. (2016). Effect of foliar application with humic acid and two antioxidants on ruby seedless grapevine. *Middle East Journal of Agriculture Research*, *5*(2), 123-131.
3. Aghaeifard, F., Babalar, M., & Ahmadi, A. (2015). The effect of salicylic acid foliar spraying on qualitative characters of strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa). *Iranian Journal of Horticultural Science*, *45*(4), 325-334. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijhs.2015.53482
4. Ahmed, M., Ullah, S., Razzaq, K., Rajwana, I.A., Akhtar, G., Naz, A., Amin, M., Khalid, M.S., & Khalid, S. (2021). Pre-harvest oxalic acid application improves fruit size at harvest, Physico chemical and sensory attributes of 'Red Flesh' apricot during fruit ripening. *Journal of Horticultural Science and Technology*, *4*(2), 48-55.
5. Anwar, R., Gull, S., Nafees, M., Amin, M., Hussain, Z., Khan, A.S, & Malik, A.U. (2018). Pre-harvest foliar application of oxalic acid improves strawberry plant growth and fruit quality. *Journal of Horticultural Science and Technology*, *1*(1), 35-41.
6. Asghari, M., Masoumi Zavariyan, A., & Yousefi Rad, M. (2016). The effect of foliar application of ascorbic acid on yield components and physiologic character of sweet corn under different irrigation regimes. *Cereal Research*, *6*(2), 229-240. https://doi.org/20.1001.1.22520163.1395.6.2.8.8
7. Barnes, J.D., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S., & Davison, A.W. (1992). A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophyll `a` and `b` in lichens and higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, *32*(2), 85-90.
8. Boudet, A.M. (2007). Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, *68*, 2722-2735. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.06.012
9. Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food Drug Anal*, *10*, 178-182.
10. Damatta, F.M., & Cochicho Ramalho, J.D. (2006). Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: A Review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, *18*(1), 55-81. https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100006
11. Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S.A.M., & Chashmi, N.A. (2008). The effects of foliar application of ascorbic acid (Vitamin C) on antioxidant enzymes activities, lipid peroxidation and proline accumulation of Canola (*Brassica napus* L.) under conditions of salt stress. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *194*(3), 206-213. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2008.00301.x
12. Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S.A.M., & Sharifi, M. (2009). Effect of water deficit stress and foliar application of ascorbic acid on antioxidants enzymes activity andsome biochemical changes in leaves of grain corn (*Zea mays* L.). *Iranian Journal of Biology*, *22*(3), 407-422. (In Persian)
13. El-Lethy, S.R., Ayad, H.S., & Reda, F. (2011). Effect of riboflavin, ascorbic acid and dry yeast on vegetative growth, essential oil pattern and antioxidant activity of geranium (*Pelargonium graveolens* L.). *American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, *10*, 633-638.
14. Ergin, S., Aydogan, C., Ozturk, N., & Turhan, E. (2014). Effects of ascorbic acid application in strawberry plants during heat stress. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, *1*(2), 1486-1491.

15. FAOSTAT. (2021). Production/Yield quantities of Strawberries in World .
16. Farokhzad, A., & Asghari, M. (2016). Effect of foliar spray with ascorbic acid on some qualitative characteristics and improving color of Apple fruit (*Malus domestica* cv. Red Spur). *Plant Productions, 39*(3), 113-125. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22055/ppd.2016.12062
17. Fayed, T.A. (2010). Effect of some antioxidants on growth, yield and bunch characteristics of Thompson seedless grapevine. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, *8*(3), 322-328.
18. García-Pastor, M.E., Giménez, M.J., Valverde, J.M., Guillén, F., Castillo, S., Martínez-Romero, D., Serrano, M., Valero, D., & Zapata, P.J. (2020). Preharvest application of oxalic acid improved pomegranate fruit yield, quality, and bioactive compounds at harvest in a concentration-dependent manner. *Agronomy*, *10*(10), 1522. https://doi.org/10.3390/agronomy10101522
19. Ghorbani, A., Bakhshi, D., Haj Najari, H., Ghasemnezhad, M., & Taghidost, P. (2010). Phenolic compounds and antioxidant activity of some Iranian and import variant of apple in Karaj. *Journal of Horticultural Science*, *24*(1), 83-90. https://doi.org/10.22067/jhorts4.v1389i1.3657
20. Hancock, J.F. (2020). *Strawberries*, CAB International, Second edition, Boston, USA.
21. He, Q., & Luo, Y. (2007). Enzymatic browning and its control in fresh-cut produce. *Stewart Postharvest Review*, *3*, 123-132. https://doi.org/10.2212/spr.2007.6:3
22. Jin, P., Wang, Y.S., Wang, C.Y., & Zheng, Y. (2011). Effect of cultural system and storage temperatureon antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. *Food Chemistry*, *124*, 262-270. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.029
23. Khosroabadi, H., Varasteh, F., & Seifi, E. (2016). Interaction effects of oxalic acid and storage time on some qualitative characteristics of plum fruit cv. Santa Rosa. *Plant Productions*, *40*(2), 13-24. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22055/ppd.2017.13113
24. Kumar, N., Arora, N.K., Kaur, G., Gill, M.I.S., & Brar, J.S. (2017). Effect of pre-Harvest sprays of ascorbic Acid, calcium chloride and ethephon on fruit quality of grapes (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Krishi Vigyan*, *6*(1), 71-77. https://doi.org/10.5958/2349-4433.2017.00054.X
25. Maratab, A., Liu, M., Wang, Z., Li, S., Jiang T., & Zheng, X. (2019). Pre-harvest spraying of oxalic acid improves postharvest quality associated with increase in ascorbic acid and regulation of ethanol fermentation in kiwifruit cv. Bruno during storage. *Journal of Integrative Agriculture*, *18*(11), 2514–2520.
26. Martinez-Espla, A., Zapata, P.J., Valero, D., Garcia-Viguera, C., Castillo, S., & Serrano, M. (2014). Preharvest application of oxalic acid increased fruit size, bioactive compounds, and antioxidant capacity in sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *62*, 3432-3437. https://doi.org/10.1021/jf500224g
27. Martinez-Espla, A., Serrano, M., Martínez-Romero, D., Valero, D., & Zapata, P.J. (2019). Oxalic acid preharvest treatment increases antioxidant systems and improves plum quality at harvest and during postharvest storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(1), 235-243. https://doi.org/10.1002/jsfa.9165
28. Mirshekari, M., Einali, A.R., & Valizadeh, J. (2017). Physiological and biochemical responses of Hibiscus sabdariffa to drought stress in the presence of salicylic acid. *Iranian Journal of Plant Biology*, *9*(32), 21-38. (In Persian with English abstract)
29. Muller-Moule, P., Conklin, P.L., & Niyogi, K.K. (2002). Ascorbate deficiency can limit Violaxanthin De-Epoxidase activity in vivo. *Plant Physiology*, *128*(3), 970-977. https://doi.org/10.1104/pp.010924
30. Munne-Bosch, S., Jubany-Mari, T., & Alegre, L. (2001). Drought-induced senescence is characterized by a loss of antioxidant defenses in chloroplasts. *Plant, Cell and Environment*, *24*(12), 1319-1327. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00794.x
31. Oz, A.T., Kafkas, E., & Bozdgan, A. (2016). Combined effects of oxalic acid treatment and modified atmosphere packaging on postharvest quality of loquats during storage. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *40*, 433-440.
32. Pavet, V.E., Olmos, G., Kiddle, S., Mowla, S., Kumar, J., Antoniw, M., Alvarez, E., & Foyer, C.H. (2005). Ascorbic acid deficiency activities cell death and disease resistance responses in Arabidopsis. *Plant Physiology*, *139*, 1291–1303.
33. Proietti, S., Moscatello, S., Leccese, A., Colla, G., & Battistelli, A. (2004). The effect of growing spinach (*Spinacia oleracea* L.) at two light intensities on the amounts of oxalate, ascorbate, and nitrate in their leaves. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, *79*(4), 606-609. https://doi.org/10.1080/14620316.2004.11511814
34. Razavi, F., & Hajilou, J. (2016). Enhancement of postharvest nutritional quality and antioxidant capacity of peach fruits by preharvest oxalic acid treatment. *Scientia Horticulture*, *200*, 95-101. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.01.011
35. Salami, P., Ahmadi, H., Keyhani, A., & Sarsaifee, M. (2010). Strawberry post-harvest energy losses in Iran. *Researcher*, *2*(4).
36. Serna-Escolano, V., Giménez, M.J., Castillo, S., Valverde, J.M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M.,

Valero, D., & Zapata, P.J. (2021). Preharvest treatment with oxalic acid improves postharvest storage of lemon fruit by stimulation of the antioxidant system and phenolic content. *Antioxidants, 10*(6), 963. https://doi.org/10.3390/antiox10060963

37. Sevinc Uzumcu, S., Koyuncu, M.A., Onursal, C.E., Guneyli, A., & Erbas, D. (2020). Effect of pre-harvest oxalic acid treatment on shelf-life of apricot cv. 'Roxana'. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, *9*(1), 73-80.
38. Shazly, S.M., Eisa, A.M., Moatamed, A.M.H., & Kotb, H.R.M. (2013). Effect of some Agro-chemical pre-harvest foliar application on yield and quality of 'Swelling' peach trees. Alexander *Journal of Agricultural Research*, *58*(3), 219-229.
39. Sheteawi, S.A. (2007). Improving growth and yield of salt-stressed soybean by exogenous application of jasmonic acid and ascorbic. *International Journal of Agriculture and Biology*, *9*(3), 473-478.
40. Shiukhy, S. (2022). The Effect of colored polyethylene mulch on quality characteristics, yield and chlorophyll fluorescence parameters of strawberry Cv. Camarosa. *Journal of Horticultural Science*, *36*(2), 459-470. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2021.70983.1064
41. Singh, J., & Mirza, A. (2018). Influence of ascorbic acid application on quality and storage life of fruits. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*(07), 4319-4328. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.707.503
42. Slinkard, K., & Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, *28*, 49-55.
43. Smirnoff, N. (2000). Ascorbic acid, metabolism, and function of a multi-facetted molecule. *Current Opinion in Plant Biology*, *3*(3), 229-235.
44. Tagi, A.K., Mazid, M., & Firoz, M. (2011). A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stress induced in plants. *Journal of Agrobiology*, *28*(2), 97-111.
45. Tassi, E., Pouget, J., Petruzzelli, G., & Barbafieri, M. (2008). The effects of exogenous plant growth regulators in the phytoextraction of heavy metals. *Chemosphere*, *71*(1), 66-73. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.10.027
46. Varasteh, F., Arzani, K., Barzegar, M., & Zamani, Z. (2017). Pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit storability improvement using pre-storage chitosan coating technique. *Journal of Agriculture Science and Technology*, *19*, 389-400. https://doi.org/20.1001.1.16807073.2017.19.2.10.7
47. Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanins in protoplast. *Plant Physiology*, *64*, 88-93.
48. Wang, Q., Lai, T.,Qin, G., & Tian, S. (2009). Response of jujube fruits to exogenous oxalic acid treatment based on the proteomic analysis. *Plant, Cell and Physiol*, *50*(2), 230−242. https://doi.org/10.1093/pcp/pcn191
49. Wu, F., Zang, D., Zang, H., Jiang, G., Su, X., Qu, H., Jang, Y., & Duan, X. (2011). Physiological and biochemical response of harvested plum fruit to oxalic acid during ripening or shelf-life. *Food Research International*, *44*, 1299-1305.
50. Zheng, X., & Tian, Sh. (2006). Effect of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit. *Food Chemistry*, *96*, 519-523.
51. Zhu, Y., Yu, J., Brecht, J., Jiang, T., & Zheng, X. (2016). Pre-harvest application of oxalic acid increases quality and resistance to *Penicillium expansum* in kiwifruit during postharvest storage. *Food Chemistry*, *1*(190), 537-543. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.001
52. Zulaikha, R. (2013). Effect of foliar spray of ascorbic acid, Zn, seaweed extracts force and biofertilizers on vegetative growth and root growth of olive (*Olea europea* L.) transplants cv. Hogblanca. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, *17*(2), 79-89.